

Über das uricolytische Ferment.

Von
Alfred Schittenhelm.

Aus dem Laboratorium der medizinischen Klinik zu Göttingen: Geheimrat Ebstein.)
(Der Redaktion zugegangen am 10. Mai 1905.)

Daß die Harnsäurezerstörung eine Funktion ganz bestimmter Organe ist, geht aus meinen vorstehend mitgeteilten Versuchen mit Sicherheit hervor. Ich habe darin festgestellt, daß ein uricolytisches Ferment in der Niere, der Leber, dem Muskel und vielleicht dem Knochenmark des Rindes zu finden ist, während dagegen die Milz, die Lunge und der Darm wohl Harnsäure zu bilden, nicht aber zu zerstören vermag. Auch Wiener¹⁾ hat bereits früher festgestellt, daß der Niere, der Leber und dem Muskel des Rindes harnsäurezerstörende Fähigkeiten zukommen; Burian²⁾ hat dann für die Leber und den Muskel, Ascoli³⁾ für die Leber des Rindes dieselbe Beobachtung gemacht.⁴⁾

¹⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak., Bd. XLII, S. 375.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 497 u. 532.

³⁾ Pflügers Archiv, Bd. LXXII, S. 340.

⁴⁾ Ähnliche Beobachtungen wurden außerdem an der Hunde-, Katzen- und Schweineleber gemacht. — Übrigens teilt Sir Lander Brunton in London (Zentralbl. f. Physiol., 1905, Bd. XIX, Nr. 1, S. 5) betreffs der Priorität mit, daß bereits im Jahre 1860 Stockvis in Amsterdam (Donders Archiv für die holländischen Beiträge, Utrecht 1860, Bd. II, S. 268) Harnsäurezersetzung durch Organbrei beobachtet habe. Später hat Brunton selbst in Gemeinschaft mit Bokenham die Versuche wieder aufgenommen und die Angaben von Stockvis bestätigt, daß nämlich Harnsäure zersetzt und Harnstoff gebildet wird durch Erwärmung von harnsauren Salzen mit Brei von Verdauungsleber, während Leber von Tieren, welche gefastet haben, Harnsäure nicht zersetzt (publiziert in Pawlows Festschrift, Arch. scienc., St. Petersburg 1904, Supplément).

Wie ich bereits kurz mitteilte,¹⁾ ist es mir gelungen, das uricolytische Ferment zu isolieren, und ich will in folgendem darauf näher eingehen. Da unter den Rinderorganen die Niere am ausgiebigsten die Harnsäurezerstörung vermag, so habe ich an ihr meine Untersuchungen angestellt.

Da es mir gelungen war, das harnsäurebildende Ferment aus wässerigen Milzextrakten mittels Aussalzung durch Ammonsulfat isoliert zu erhalten, so versuchte ich zuerst auf diesem Wege zu einem Resultat zu gelangen. Ich bekam jedoch keine wirksame Lösungen. Ebenso wenig führte die Fällung mit Alkohol zu einem befriedigenden Resultat.

Ich ging daher zu einer anderen Methode über und zwar zu der von Rosell²⁾ angegebenen, welche auf einer Ausfällung mittels Uranylacetat in alkalischer Lösung beruht. Dabei zeigte sich bald, daß auf diese Weise gut wirksame, harnsäurezersetzende Fermentlösungen erhalten werden können.

Die Methode gestaltet sich kurz folgendermaßen:

400—600 g fein zerkleinertes und mit Sand zerriebenes Nierengewebe wird mit zirka $\frac{1}{2}$ seines Volumens (ev. auch etwas mehr) Wasser angesetzt und einige Stunden auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Dann wird koliert und die erhaltene Kolatur mit einer gesättigten Lösung von Uranylacetat unter gleichzeitiger Zufügung einer Mischung von Natriumkarbonat und Natriumphosphat, sodaß die Lösung stets alkalisch bleibt, so lange versetzt, bis sich grobe Flocken bilden, welche sich dann weiterhin gut absetzen. Man dekantiert und filtriert. Der Filterrückstand wird in 600—800 ccm 0,2%iger Soda-lösung fein verrieben oder besser einige Stunden geschüttelt, und bleibt dann ca. 12 Stunden stehen. Hierauf wird filtriert. Das Filtrat enthält das Ferment.

Versuch I.

250 ccm Fermentlösung + 0,3 g in wenig Normalnatron-lauge gelöste Harnsäure gehen 3 Tage lang unter Chloroform-zusatz und ständiger Luftdurchleitung bei ca. 40°.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 228.

²⁾ Über Nachweis und Verbreitung intracellulärer Fermente. Inaug.-Dissert., Straßburg 1901.

Wiedergewonnen **0,05 g** Harnsäure.

Es waren also **83%** der zugefügten Harnsäure zerstört worden.

Versuch II.

400 ccm Nierenfermentlösung + 0,5 g in wenig Normalnatronlauge gelöster Harnsäure 5 Tage lang ebenso angesetzt.

Wiedergefunden **0,05 g** Harnsäure.

Es waren also **90%** der zugefügten Harnsäure zerstört worden.

Versuch III.

300 ccm Fermentlösung + 0,3 g in 5—6 ccm Normalnatronlauge gelöster Harnsäure 3 Tage lang analog angesetzt.

Wiedergefunden keine Harnsäure.

Es waren also **100%** der zugesetzten Harnsäure zerstört worden.

Versuch IV.

300 ccm Fermentlösung + 0,25 g in wenig Normalnatronlauge gelöster Harnsäure analog angesetzt.

Wiedergefunden 0,135 g Harnsäure.

Es waren also **46%** der zugesetzten Harnsäure zerstört worden.

Die Versuche beweisen, daß es wohl gelingt, eine gut wirksame Lösung des uricolytischen Fermentes der Niere durch die Rosellsche Fällungsmethode zu erhalten.¹⁾ Um jedoch sofort dem Einwand zu begegnen, daß der alkalische Charakter der Lösung das wirksame Prinzip darstelle oder gar geringe Mengen in Lösung gebliebener Uransalze, und um andererseits zu beweisen, daß es tatsächlich ein Ferment ist, welches in meiner Versuchslösung die Uricolyse bewerkstelligt, setzte ich einige Versuche an mit derselben Fermentlösung, welche jedoch vorher im Dampftopf auf 80—100° erhitzt worden war.

¹⁾ Nicht immer gelingt es, gut wirksame Fermentlösungen zu erhalten. Hieran mögen zum Teil kleine, scheinbar gleichgültige Abweichungen in der Darstellung die Schuld tragen. Ob noch andere Faktoren mitspielen (verschiedene Quantität und Qualität der Nierenfermente? etc.), muß noch dahingestellt bleiben.

Versuch V.

250 ccm $\frac{1}{2}$ Stunde auf 100° erwärmter Fermentlösung + 0,3 g in wenig Normalnatronlauge gelöster Harnsäure analog angesetzt.

Wiedergewonnen 0,25 g Harnsäure.

Versuch VI.

300 ccm einer wenige Minuten auf 80° erhitzten Fermentlösung + 0,25 g in wenig Normalnatronlauge gelöster Harnsäure analog angesetzt.

Wiedergefunden 0,22 g Harnsäure.

Es war also in beiden Versuchen auch etwas Harnsäure verloren gegangen: jedoch ist der Unterschied so eklatant, daß gar kein Zweifel mehr bestehen kann an der Fermentnatur des zerstörenden Agens sowohl, wie an der Tatsache, daß das Ferment nach Rosell in wirksamer Form isoliert werden kann.

Die Fermentlösung ist sehr einfach zusammengesetzt, was aus der folgenden Analyse ersichtlich ist.

Auf 1000 Lösung kommen:

986,2	Wasser,
9,82	organische Substanz,
3,98	Ascherückstand,
1,187	Stickstoff.

Des weiteren ist hervorzuheben, daß die Lösung so gut wie gar keine Purinkörper enthält.

Das Ferment ist nicht dialysierbar und es gelingt daher, dasselbe durch Dialyse noch weiter zu reinigen.

Versuch VII.

400 ccm Fermentlösung, welche 3 Tage lang gegen fließendes Wasser dialysiert hatten, wurden mit 0,3 g in wenig Normalnatronlauge gelöster Harnsäure versetzt und 3 Tage lang wie gewöhnlich unter Luftdurchleitung bei ca. 40° gehalten.

Wiedergefunden 0,04 g Harnsäure.

Es waren somit 87% der zugesetzten Harnsäure zerstört worden.

Der Versuch spricht eine deutliche Sprache. Auch hier lag eine wirksame Fermentlösung trotz Dialysierens vor.

Lange nach Abschluß dieser Versuche erschien eine Mitteilung von Wiener,¹⁾ welche ebenfalls unter Hinweis auf meine diesbezüglichen Versuche eine Methode angibt, auf welche das uricolytische Ferment aus der Niere isoliert werden kann. Er fällt den Organextrakt mit Essigsäure (0,2/250), von der er gewöhnlich die 3fache Menge zusetzte, mit Methylalkohol und Ammonsulfat. Die Niederschläge werden in Wasser aufgenommen, mit Karbonatlösungen verschiedener Konzentration neutralisiert und ausgelaugt und die zelligen Bestandteile mit Pepsinsalzsäure oder Trypsin verdaut. Dann wird nochmals mit Methylalkohol gefällt und mit Karbonatlösung der Niederschlag ausgezogen.

Ein bestimmtes Quantum der so gewonnenen Lösung schüttelt er mit einer gewogenen Menge Harnsäure bei 40° ca. 40 Stunden. Seine Resultate sind keine glänzenden. Von 0,125 g zugegebener Harnsäure findet er Mengen von 0,056, 0,08, 0,05, 0,097, 0,05, 0,086, 0,097 etc. g wieder.

Ich führe diese Methode an, ohne darüber selbst Erfahrungen zu haben.

Eine Vergleichung meiner mit der Rosellschen Fällung erhaltenen Resultate mit denen Wieners scheint mir jedoch ohne weiteres für eine erheblich bessere Brauchbarkeit der Rosellschen Methode zur Isolierung des uricolytischen Ferments zu sprechen.

¹⁾ Zentralbl. f. Physiol., Bd. XVIII, Nr. 22, S. 690.